

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 05-009124

(43)Date of publication of application : 19.01.1993

(51)Int.Cl.

A61K 35/20  
// A23L 1/30

(21)Application number : 03-183299

(71)Applicant : CALPIS FOOD IND CO LTD:THE

(22)Date of filing : 28.06.1991

(72)Inventor : FUTAMI AKIRA  
TAKANO TOSHIKI

## (54) COMPOSITION FOR REGULATING INTERLEUKIN PRODUCTIVITY

### (57)Abstract:

**PURPOSE:** To obtain a composition, containing a fermented milk or its treated substance as an active ingredient and capable of regulating interleukin productivity of human or animal cells without any toxicity and side effects.

**CONSTITUTION:** A composition containing a fermented milk prepared by fermenting a milk ingredient such as whole milk of, e.g. animal milk or soybean milk, skim milk or whey with a lactic acid bacterium such as lactic acid-producing bacterium, e.g. *Streptococcus thermophilus* or *Lactobacillus bulgaricus* or the lactic acid bacterium and a yeast or its treated substance as an active ingredient. The aforementioned composition is capable of regulating interleukin productivity of human or animal cells, especially enhancing the interleukin-2 productivity or interleukin-3 productivity of the human or animal cells and/or suppressing interleukin-6 productivity. The fermented milk or its treated substance herein used has advantages in that living bodies are not adversely affected even by ingesting a large amount thereof. The composition may directly be used or added to a food to provide a functional food or health food.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 18.02.1997

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 21.11.2000

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number] 3510639

[Date of registration] 09.01.2004

[Number of appeal against examiner's decision of rejection] 2000-20092

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection] 20.12.2000

[Date of extinction of right]

(19)日本国特許庁 (J P)

(12)公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-9124

(43)公開日 平成5年(1993)1月19日

(51)Int.Cl.<sup>5</sup>

識別記号

F I

A61K 35/20

9165-4C

// A23L 1/30

A 8114-4B

審査請求 未請求 請求項の数2 (全4頁)

(21)出願番号 特願平3-183299

(22)出願日 平成3年(1991)6月28日

(71)出願人 000104353

カルビス食品工業株式会社

東京都渋谷区恵比寿西2丁目20番3号

(72)発明者 二見 晶

東京都渋谷区恵比寿南2丁目4番1号カル

ビス食品工業株式会社研究開発センター内

(72)発明者 高野 俊明

東京都渋谷区恵比寿南2丁目4番1号カル

ビス食品工業株式会社研究開発センター内

(74)代理人 弁理士 坂口 昇造

(54)【発明の名称】 インターロイキン産生能を調節するための組成物

(57)【要約】

【目的】 ヒトまたは動物のインターロイキン産生能を調節するための組成物、またはインターロイキン-2産生能及び/またはインターロイキン-3産生能を増強し、及び/またはインターロイキン-6産生能を抑制するための組成物の提供。

【構成】 発酵乳またはその処理物を有効成分として含有するヒトまたは動物のインターロイキン産生能を調節するための組成物、またはインターロイキン-2及び/またはインターロイキン-3産生能を増強し、及び/またはインターロイキン-6産生能を抑制するための組成物。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 発酵乳またはその処理物を有効成分として含有するヒトまたは動物の細胞のインターロイキン産生能を調節するための組成物。

【請求項2】 発酵乳またはその処理物を有効成分として含有するヒトまたは動物の細胞のインターロイキン-2産生能及び/またはインターロイキン-3産生能を増強し、及び/またはインターロイキン-6産生能を抑制するための組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明はヒトまたは動物の細胞のインターロイキン（以下、ILという）産生能を調節するための組成物、さらに詳しくはヒトまたは動物の細胞のIL-2及び/またはIL-3産生能を増強し、IL-6産生能を抑制するための組成物に関する。

## 【0002】

【従来の技術】 従来、発酵乳にナチュラルキラー細胞（NK細胞）活性の増強、マクロファージ活性の増強、抗体産生の増強、ガンマインターフェロンの産生強化、細胞増殖能の亢進等の作用があることが知られている〔高野俊明，日本醸造協会誌，85(7)，438-444（1990）、及び Perdigon, G., Nader de Macias ら，J. Dairy Res. 57(2)，255-264(1990)〕。しかしながら、発酵乳にIL産生能調節作用があることは知られておらず、逆にヨーグルトにIL-2産生能増強効果がないことが文献に示されている。すなわち Simone, C.D. ら，Nutrition Reports International, 33(3), 419-433(1986)によるとヒト末梢血液リンパ球をヨーグルトの存在下マイトジェンとしてのコンカナバリンAで刺激したところ、γ-インターフェロン産生能は増強されたが、IL-2産生能は増強されなかった（特に文献中表3及びその前文）。ILは細胞が産生する液性因子であるサイトカインの一種であり、多くの種類を包含する〔IL全般に亘っての文献：わかりやすい免疫学，メディカルレビュー社，57-73頁（1991年3月）、IL-2についての文献：医学のあゆみ，126(5)，381-386，394-400，401-408(1983)、IL-3についての文献：Medical Immunology 11(6)，671-681，(1986)、IL-6についての文献：臨床免疫21(8)，1225-1241（1989）〕。

【0003】 このうちIL-2はT細胞増殖因子であるので、生体内の各種免疫反応において、T細胞が関与する反応を促進する働きがある。特に、生体内に異物が侵入した場合などの、抗体産生の亢進や細胞傷害性T細胞の活性化に役だっていると考えられる。また、癌に対する免疫系を賦活することも考えられる。実際IL-2は癌や感染症の治療薬として注目されている。IL-3は造血幹細胞の増殖、分化因子なので、生体がウイルスや微生物、癌などに感染し、造血系の分化した細胞が足りなくなったときにそれを補う働きを持つと考えられる。

例えば、T細胞を攻撃し、機能低下を起こすウイルスが進入してきた場合、末梢のT細胞が死滅し、抗体産生系が働かなくなることが考えられるが、それを幹細胞からの分化、増殖によって補っていることが考えられる。IL-6は多機能因子として知られている。例えば、B細胞が抗体産生細胞に分化することを促進したり、T細胞の細胞傷害性を増したり、造血幹細胞の分化、増殖を促したり、表皮基底層ケラチノサイトの分化、増殖を促進したりする。他にも、肝臓や腎臓の細胞に対して、効果を持つことがわかっている。しかし、現在では、リンパ腫やエイズなどの病気にかかっている場合、血中のIL-6量が正常と比べて高くなっていることがわかっている。これは、生体の異常に対してIL-6を高生産して防御しようとしているためで、正常の場合はこのような高生産は不必要と考えられる。かえって、IL-6が多いと抗体産生量が増し、不必要な抗体量が血液中で増加することにより、好ましくない状況になると考えられる。そこで、正常な状態ではIL-6産生能はそれほど高い必要はないと考えられる。

## 20 【0004】

【発明が解決しようとする課題】 従って、ヒトや動物のIL産生能を調節し、特にIL-2及び/またはIL-3産生能を増強し、及び/またはIL-6産生能を抑制し、かつ実質上毒性、副作用のない組成物であって、上述の如き場合に対し、予防的もしくは治療的に経口投与することができ、または特に単独にまたは日常食する食品に添加し主として予防的見地から摂取することができる組成物があれば好ましい。

## 【0005】

30 【課題を解決するための手段】 本発明の上記目的は発酵乳またはその処理物を有効成分として含有するヒトまたは動物の細胞のIL産生能を調節するための組成物によって、特に発酵乳またはその処理物を有効成分として含有するヒトまたは動物の細胞のIL-2及び/またはIL-3産生能を増強し、及び/またはIL-6産生能を抑制するための組成物によって達成された。

40 【0006】 発酵乳は獣乳、豆乳等の全乳、脱脂乳、乳清（ホエー）等の乳成分を乳酸菌、または乳酸菌と酵母で発酵させることにより得られる。乳酸菌としてはストレプトコッカス属、ラクトバチルス属、ビフィドバクテリウム属等に属する乳酸産生菌が用いられ、さらに詳しくはストレプトコッカス・サーモフィラス (*Streptococcus thermophilus*)、ラクトバチルス・ブルガリカス (*Lactobacillus bulgaricus*)、ラクトバチルス・ヘルベティカス (*L. helveticus*)、ラクトバチルス・カゼイ (*L. casei*)、ラクトバチルス・アシッドフィラス (*L. acidophilus*)、ラクトバチルス・ファーメンタム (*L. fermentum*)、ビフィドバクテリウム・ロングム (*Bifidobacterium longum*)、ビフィドバクテリウム・ブレベ (*B. breve*) 等に属する乳酸産生菌が用いられる。

具体的にはストレプトコッカス・サーモフィラス IAM 1047、ラクトバチルス・ブルガリカス ATCC 11842、ラクトバチルス・ヘルペティカス ATCC 15009、ラクトバチルス・ヘルペティカス・ss・ユーグルティ (jugurti) ATCC 521、ラクトバチルス・カゼイ ATCC 393、ラクトバチルス・アシッドフィラス JCM 1132、ラクトバチルス・ファーマンタム ATCC 14937、ビフィドバクテリウム・ロングム ATCC 15707、ビフィドバクテリウム・ブレベ ATCC 15701 等が用いられる。また酵母としてはサッカロマイセス属、カンディダ属、クルイペロマイセス属等に属する菌株が用いられ、酵母によって発酵乳に香気が付与される。さらに詳しくはサッカロマイセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*)、カンディダ・ウチリス (*Candida utilis*)、クルイペロマイセス・マルキサナス・パー・ラクティス (*Kluyveromyces marxianus* var *lactis*) 等に属する菌株が用いられる。具体的にはサッカロマイセス・セレビシエ ATCC 2565、カンディダ・ウチリス ATCC 8205、クルイペロマイセス・マルキサナス・パー・ラクティス IF0 1090等が用いられる。

【0007】上記乳酸菌の1種もしくは2種以上を培地に培養するか、または上記乳酸菌の1種もしくは2種以上と上記酵母の1種もしくは2種以上とを組み合わせ培地に培養する。培地としては前記全乳、乳成分の1種もしくは2種以上のみからなる培地でもよいし、これに副次的成分として酵母エキス、ビタミン類 (アスコルビン酸等)、アミノ酸 (システイン等)、塩類 (塩化ナトリウム等)、糖類 (スクロース、ラフィノース、スタキオース等のオリゴ糖等)、安定剤 (ゼラチン等)、フレーバー等を適宜添加した培地でもよい。発酵は通常静置培養により温度25~45℃、好ましくは37℃、初発pH 6.0~7.0で行い、菌数が10<sup>9</sup>個/ml以上、pH 5.5以下になった時点で培養を停止する。得られる発酵乳は使用菌が生存したままでも加温 (例えば80℃達温) 等によって殺菌してもよい。発酵乳はそのまままたはその処理物として、例えば減圧濃縮等で濃縮した濃縮物として、もしくは凍結乾燥、噴霧乾燥等により乾燥した粉末として本組成物の有効成分として用いることができる。なお粉末化に際しては粉末化を容易にするためデキストリン等の賦形剤を加えることができる。

【0008】本発明の組成物は発酵乳またはその処理物のみからなっているてもよいし、または通常少なくとも1つの製薬補助剤をさらに含んでなる製薬組成物であってもよい。本発明の組成物はヒトまたは動物に経口的に投与する。経口投与剤は胃腸器官による吸収に適した形に製剤する。錠剤、カプセル剤、顆粒剤、細粒剤、粉末剤は常用の製薬補助剤、例えば結合剤 (シロップ、アラビアガム、ゼラチン、ソルビット、トラガカント、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロース等)、賦形剤 (ラクトース、デキストリン、スクロース、コー

ンスターチ、リン酸カルシウム、ソルビトール、グリシン等)、滑沢剤 (ステアリン酸マグネシウム、タルク、ポリエチレングリコール、シリカ等)、崩壊剤 (ポテトスターチ、カルボキシメチルセルロース等)、湿潤剤 (ラウリル硫酸ナトリウム等) を包含することができる。錠剤は常法によりコーティングすることができる。経口液剤は水溶液等にしたり、ドライプロダクトにすることができる。そのような経口液剤は常用の添加剤例えば保存剤 (p-ヒドロキシ安息香酸メチルもしくはプロピル、ソルビン酸等) を包含していてもよい。本組成物中の発酵乳またはその処理物の量は種々変えることができるが、通常5~100% (w/w)、特に10~60% (w/w) が適当である。本組成物の投与量はヒトに対して投与する場合、有効成分である、発酵乳の乾燥品、例えば凍結乾燥品として100mg/kg/day以上、例えば100~3000mg/kg/day、特に500g/kg/day程度が適当である。

【0009】また本発明で使用する発酵乳またはその処理物は多量に摂取しても生体に悪影響を与えない利点を有することから、そのまま、もしくは種々の栄養分等を加えて、または飲食品中に含有せしめてIL産生能を調節する機能、さらに詳しくはIL-2産生能及び/またはIL-3産生能を増強し、及び/またはIL-6産生能を抑制する機能を持たせた機能性食品、健康食品として食してもよい。具体的態様としては発酵乳に糖類、及び/またはフレーバーなどを添加してそのままヨーグルト様食品として用いる；発酵乳に糖類、及び/またはタンパク質、及び/または脂質、及び/またはビタミン類、及び/またはミネラル類、及び/またはフレーバー等を添加することによって栄養補助食品の素材として用いる；参考例のように粉末化を行い、脱脂粉乳の代わりに食品に添加する；参考例のように粉末化を行い、健康補助食品の素材として用いる等の態様が可能である。かかる機能性食品、健康食品としての本組成物中の有効成分の含有量、摂取量はそれぞれ上記製薬における含有量、投与量と同じでよい。

【0010】

【実施例】次に本発明を参考例、実験例及び実施例により説明する。

参考例 発酵乳及びその乾燥体の製造

40 ラクトバチルス・ヘルペティカス・ss・ユーグルティ ATCC 521 及びカンディダ・ウチリス ATCC 8205を、85℃達温殺菌した脱脂乳 (固形分約9重量%) に3%接種し、37℃で24時間共生培養を行い発酵乳 (乳酸菌数10<sup>9</sup>/ml、pH 3.2) を得た。この発酵乳10kg (固形分量約900gを含有する) にデキストリンを900g添加し、よく攪拌した後に、凍結乾燥を行い、発酵乳を粉末とした (発酵乳由来固形分約50%)。

実験例1 IL-2産生能の増強

参考例で得た発酵乳粉末をマウス・ラット用基礎飼料 (船橋農場製MF) (水分7.4%、粗タンパク質19.6

%、粗脂肪 4.8%、粗繊維 2.4%及び粗灰分 4.0%) に約 2.5重量%添加し、6週令の雌性の老化促進マウス

(以下SAMと呼ぶ) -P/2 (SAM-P/2は比較的短命の系統であり、死因に感染症や癌が多いことから免疫機能が低下していると考えられる。事実IL-2産生能は正常マウスに比べて有意に低い(二見晶ら、基礎老化研究, 12(2): 107-108, (1988)。)に約10週間自由摂取させ、脾臓細胞をコンカナバリンA (CoA)で刺激したときのIL-2産生能をJ. Watson, J. Exp. Med. 150, 1510-1519 (1979) 及び S. Gillis ら, J. of Immunology 120 (6), 2027-2032 (1976)に記載された方法によって調べた。その結果、IL-2の産生量は 305.4+41.1 (標準誤差 (S.E.))  $\mu$ g/mlであり、他方基礎飼料のみを自由摂取させた群(対象群)では190.1+34.7(S.E.)  $\mu$ g/mlであり、IL-2産生能が5%の危険率

で有意に上昇していた。

#### 【0011】実験例2 IL-3産生能の増強

参考例で得た発酵乳粉末をマウス・ラット用基礎飼料(船橋農場製MF)に約2.5重量%添加し、6週令雄性のSAM-P/2に約10週間自由摂取させ、脾臓細胞をボーク・ウィード・マイトジェン(Poke weed mitogen)で刺激したときのIL-3産生能及びIL-6産生能をそれぞれ S. Koyasu ら, J. of Immunology 134(5), 3130-3136 (1985) 及び N. Tohyama ら, J. Exp. Med. 171, 389-400 (1990)に記載された方法によって調べた。使用動物数は発酵乳粉末添加基礎飼料使用群(発酵乳粉末添加群)では8匹、基礎飼料使用群(対象群)では5匹であった。結果を表1及び2に示す。表1、2中の数字の単位はunits/mlである。

【表1】

		IL-3産生量				
		培養日数				
		1	2	3	5	7
発酵乳粉末添加群		10.6	169.9	335.5	342.0	378.0
	S.E.	2.33	29.92	32.70	36.90	23.76
対象群		8.3	192.2	257.1	319.9	155.3
	S.E.	1.06	83.01	62.73	68.05	78.97

対象群に対し5%の危険率で有意差あり

【表2】

		IL-6産生量		
		培養日数		
		1	2	3
発酵乳粉末添加群		198.2	259.9	222.9
	S.E.	76.76	51.99	54.42
対象群		253.7	331.5	338.9
	S.E.	80.06	148.62	148.41

表1及び2から明らかな如く、発酵乳粉末添加群では対象群に比べ、IL-3産生量が7日目に5%の危険率で有意に増加し、またIL-6産生量は減少する傾向にあった。

#### 【0012】実施例1

90℃で10分間加熱殺菌した10%還元脱脂乳よりなる乳培地に、ラクトバチルス・ブルガリカス ATCC11842及びストレプトコッカス・サーモフィラス IAM1047 を上記と同じ培地で共生培養して得たスターターを3%接種し、37℃で20時間培養して発酵乳を得た。この発酵乳91.8kgに砂糖8kg、レモン香料0.2kgを加え攪拌し、ソフトヨーグルト100kgを得た。

#### 実施例2

85℃で30分間加熱殺菌した15%還元脱脂乳よりなる乳培

地に、ラクトバチルス・ヘルペティカス・ss・ユーグルティ ATCC521及びサッカロマイセス・セレビシエ ATCC2565を上記と同じ培地で共生培養して得たスターターを3%接種し、35℃で24時間培養して発酵乳を得た。この発酵乳60kgにはちみつ10kg、ビタミンA5g、ビタミンC20g、ビタミンE20g、ペクチン0.4kg、水29.4kgを加え均質機にて均質化して85℃達温殺菌し、栄養補給飲料100kgを得た。

#### 実施例3

95℃で30分間加熱殺菌した10%還元脱脂乳よりなる乳培地に、ラクトバチルス・カゼイ ATCC393を上記と同じ培地で培養して得たスターターを3%接種し、40℃で12時間培養して発酵乳を得た。この発酵乳500kgにデキストリン500kgを加えて溶かした後、凍結乾燥を行い粉末発酵乳100kgを得た。

#### 【0013】

【発明の効果】本発明組成物はヒトまたは動物の細胞のIL産生能を調節し、さらに詳しくは本発明組成物はヒトまたは動物の細胞のIL-2及び/またはIL-3産生能を増強し、及び/またはIL-6産生能を抑制する。